

⑩ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑩ **Patentschrift**
⑩ **DE 199 14 279 C 1**

⑩ Int. Cl. 7:
G 01 N 21/17

G 01 N 21/75
G 01 N 21/64
G 01 N 21/55
G 01 N 21/59
G 01 N 21/01

⑪ Aktenzeichen: 199 14 279.3-52
⑫ Anmeldetag: 25. 3. 1999
⑬ Offenlegungstag: -
⑭ Veröffentlichungstag der Patenterteilung: 7. 9. 2000

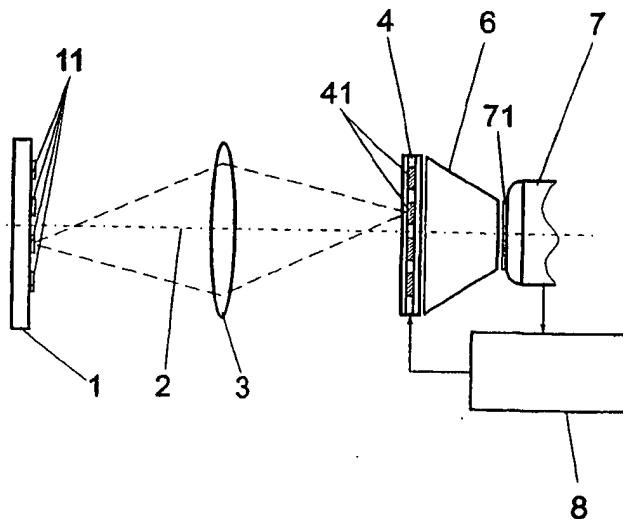
Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑬ Patentinhaber:
Jena-Optronik GmbH, 07745 Jena, DE
⑭ Vertreter:
Pat.-Ass. Volker Oehmke und Kollegen, 99441
Magdala

⑫ Erfinder:
Thorwirth, Günter, 07646 Laasdorf, DE; Reiland,
Werner, 07751 Cospeda, DE
⑮ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:
DE 197 36 641 A1
DE 44 23 802 A1
DE 68 927 63 4T2
WO 97 45 730 A1
"Optische Mikrosysteme für die
Umweltmeßtechnik",
In: Laser und Optoelektronik, 30 (1), 1998,
S. 35-35;

⑯ Anordnung zum optischen Auslesen der Information von einem matrixförmigen Substrat mit einer Vielzahl von Einzelproben

⑰ Die Erfindung betrifft eine Anordnung zum optischen Auslesen der Information von Substraten mit einer Vielzahl von Einzelproben, insbesondere zur Analyse von chemischen und biologischen Probenträgern. Die Aufgabe der Erfindung, eine neue Möglichkeit zum optischen Auslesen der Information von matrixförmigen Substraten mit einer Vielzahl von Einzelproben zu finden, die ein schnelles Auslesen einer von den Einzelproben beeinflußten Strahlung mit großer Empfindlichkeit gestattet, wird erfindungsgemäß gelöst, indem beim optischen Auslesen eines matrixförmigen Substrats mit einer Vielzahl metrisch geordneter Pixel als Empfänger ein Einzelempfänger mit großer Empfindlichkeit und einheitlicher Empfängerfläche vorgesehen ist, eine elektrooptische Matrix sowie ein abbildendes optisches System vorhanden sind, wobei mittels des abbildenden optischen Systems jedes Substratpixel zu einem Matrixpixelbereich zugeordnet ist, und die Matrix so ansteuerbar ist, daß Matrixbereiche separat schaltbar sind, die ausschließlich das Zuführen von Strahlung eines Substratpixels auf den Empfänger gestatten, wobei nacheinander Strahlungsmengen von jeweils mindestens einem Substratpixel über ein geeignet gewähltes Zeitintervall auf den Empfänger treffen, so daß eine Serie von gemessenen Strahlungsmengen ausgewählter Sequenzen von Substratpixelen am Ausgang des Empfängers auswertbar ist.



Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Anordnung zum optischen Auslesen der Information von Substraten mit einer Vielzahl von Einzelpolen, insbesondere zur Analyse von chemischen und biologischen Probenträgern, wie z. B. Mikro- und Nanotiterplatten oder Bio-Chips.

Für Aufgaben der biotechnischen Analyse (Screening) großer Probenmengen, z. B. für die Genanalyse (z. B. Virendiagnostik) ist die Verwendung sogenannter Mikrotiterplatten und zugehöriger Handhabetechnik (z. B. Automaten zur Befüllung der einzelnen Kavitäten der Mikrotiterplatte) eine eingeführte Technik (Pharmaforschung, klinische Praxis usw.). Diese Technik zeichnet sich dadurch aus, daß in einer Mikrotiterplatte der Größe 8 cm × 12 cm je nach Ausführungsform 96 (verbreitetster Typ), 384 oder 1536 (wahrscheinlich maximal mögliche Größe für Mikrotiterplatten-technologie mit bisher nur geringer Anwendung) verschiedene Probenstoffe untergebracht werden können. Zum Befüllen der einzelnen Kavitäten sind je nach Art der Mikrotiterplatte Probenmengen in der Größenordnung von 100 µl erforderlich.

Im Zuge der Effektivitätssteigerung sind international Forschungs- und Entwicklungsarbeiten zur wesentlichen Vergrößerung der Anzahl der (parallel verarbeitbaren) Kavitäten bei gleichzeitiger wesentlichen Verkleinerung der erforderlichen Probenmengen und einer wesentlichen Erhöhung des Probendurchsatzes im Gange. Diese Ziele sollen erreicht werden durch den Übergang von Mikrotiterplatten zu (z. B. mit mikrophotolithographischen Technologien hergestellten) Bio-Chips und schnellem Auslesen und Verarbeiten (High Throughput-Screening, HTS) der Bio-Chips. Ein einzelner Bio-Chip kann auf einer Fläche von einigen mm² bis cm² mehrere zehntausend Spots (vergleichbar den Kavitäten der Mikrotiterplatte) beinhalten, wobei in Summe über alle Spots Probenmengen in der Größenordnung von einigen Nanolitern erforderlich sind.

Zum Auslesen von Bio-Chips (wie auch von Mikrotiterplatten oder beliebigen anderen chemischen Probenträgern) wird das Probenmaterial mit Licht je nach Art der Proben im UV- bis in den NIR-Bereich bestrahlt und die Beeinflussung der Strahlung durch das Probenmaterial (z. B. Absorption) oder die Wirkung der Beleuchtungsstrahlung auf das Probenmaterial (z. B. Anregung einer Lumineszenzstrahlung) gemessen.

Zum Auslesen der matrixförmigen Anordnung der Pixel auf einem Bio-Chip sind prinzipiell die folgenden zwei Techniken bekannt:

1. serielles Beleuchten mittels eines Laserscanner und Auslesen der einzelnen Probenbilder (Pixel) des Probenträgers unter Verwendung eines einzelnen optoelektronischen Photoempfängers, z. B. Photonenzähler/Sekundärelektronenvervielfacher (SEV)/Photo Multiplier Tube (PMT).

2. paralleles Beleuchten und gleichzeitiges Auslesen vieler oder aller Pixel des Probenträgers unter Verwendung einer optoelektronischen Empfängermatrix (z. B. CCD).

Bekanntgewordene Lesegeräte für Mikrotiterplatten arbeiten (bedingt durch die Abmaße dieser Platten) praktisch ausschließlich nach dem Scan-Prinzip. Bei diesem Prinzip werden die einzelnen Proben (Kavitäten) des Probenträgers jeweils (zeitlich nacheinander) separat angeregt. Dazu werden Laserscanner verwendet, weil sich schmalbandige koärente Lasersstrahlung im Gegensatz zu breitbandiger inkoärente Strahlung auf kleine Pixelflächen (einige µm²) pro-

blemlos fokussieren läßt.

Die Schmalbandigkeit der verwendeten Laserstrahlung ist einerseits von Vorteil, da eine schmalbandige Anregung notwendig ist, um einen speziellen Marker (z. B. Fluoreszenzmarker) gezielt anzuregen, andererseits aber von Nachteil, wenn für verschiedene Marker unterschiedliche Anregungswellenlängen und damit ein Wechsel der Laserlichtquelle (oder die Verwendung von kostenintensiven durchstimmmbaren Lasern) erforderlich sind.

10 Beim Kamera-Prinzip können prinzipiell auch kostengünstige breitbandige (thermische) Lichtquellen zur Beleuchtung verwendet werden, so daß bei einem Wechsel des Markers lediglich ein Anregungsfilter ausgetauscht werden muß. Es ist für eine Reihe von Anwendungen sinnvoll, breitbandige Lichtquellen zu verwenden, was aus Kostengründen für den Einsatz des Kamera-Prinzips spricht.

15 Ein Beispiel für die Anwendung des Kamera-Prinzips ist ein Nanotiterplatten-Auslesegerät, das in dem Fachartikel "Optische Mikrosysteme für die Umweltmeßtechnik" (in: 20 Laser und Optoelektronik, 30 (1), 1998, S. 33–35) beschrieben ist.

25 Andererseits empfiehlt sich das Scan-Prinzip aufgrund der Verwendung hochempfindlicher SEV, woraus insbesondere eine besonders gute Nachweisempfindlichkeit bei schwacher Sekundärstrahlung resultiert, die beim Kamera-Prinzip infolge der verwendeten wenig empfindlichen Matrixempfänger regelmäßig fehlt bzw. durch relativ lange Integrationszeiten (einige zehn Sekunden bis wenige Minuten) und den Einsatz kostenaufwändiger gekühlter Empfänger- 30 matrizen (zur weitgehenden Unterdrückung der Generierung thermischer Ladungsträger während der Integrationszeit) kompensiert werden muß.

35 Aus dieser Sichtweise heraus gab es auch Bestrebungen, eine breitbandige Strahlungsquelle mit einem empfindlichen SEV als Strahlungsempfänger in einer Meßapparatur zu kombinieren, die gerätetechnisch als Ultra-High-Throughput-Screening-System (von der Carl Zeiss Jena GmbH) für die Verarbeitung von 96er Mikrotiterplatten mit 96 optischen Übertragungskanälen und einem SEV je Kanal

40 bekannt geworden ist. Diese Lösung führt jedoch zu sehr hohen Kosten und scheint für Pixelzahlen in der Größenordnung von mehreren tausend bis zehntausend Pixeln nicht vorstellbar. Eine andere kombinatorische Vorgehensweise zum multivalenten High-Throughput-Screening wurde in 45 der WO 97 45 730 A1 offenbart, indem – neben Scanmethoden – eine Vorrichtung in der Art eines Fluoreszenz-Mikroskops mit unterschiedlichen Vergrößerungen und wählbaren Anregungswellenlängen sowie einer gekühlten CCD-Matrix offenbart wurde. Mit der dort vorgeschlagenen Apparatur werden jedoch nur ein Darstellen unterschiedlicher Arrays von Kavitäten (Wells) in einem Bild auf der CCD ermöglicht sowie eine Untersuchung verschiedener Fluoreszenzmarker erreicht. Das Problem der unzureichenden Intensität und des Übersprechens des Fluoreszenzlichtes der 50 einzelnen Proben im mikroskopischen Abbildungsprozeß wird damit nicht gelöst.

55 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine neue Möglichkeit zum optischen Auslesen der Information von matrixförmigen Substraten mit einer Vielzahl von Einzelpolen zu finden, die ein schnelles Auslesen einer von den einzelnen Probenstoffen charakteristisch beeinflußten Strahlung mit großer Empfindlichkeit gestattet.

60 Außerdem soll eine Möglichkeit gefunden werden, von der Speicherung einer vollständigen (Bild-)Datei der örtlichen Verteilung der Strahlungsintensitäten auf dem matrixförmigen Substraten abzugehen und für spezifische Aufgabenstellungen (z. B. Vergleich der aktuellen Strahlungsverteilung zu einem Katalog möglicher Verteilungen) bereits

65

im optischen Kanal eine geeignet anpaßbare Datenreduktion oder eine (zur nachfolgenden digitalen Auswertung mittels PC o. ä.) vorgelagerte Erstauswertung vorzunehmen.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß bei einer Anordnung zum optischen Auslesen der Information von einem matrixförmigen Substrat mit einer Vielzahl von Einzelproben, die metrisch geordnete Pixel auf dem Substrat darstellen und eine durch die jeweilige Probensubstanz charakteristisch beeinflußte Strahlung abgeben, mit einer Übertragungsoptik zum separierten Übertragen der von einzelnen Substratpixeln abgegebenen Strahlung auf einen Empfänger, dadurch gelöst, daß der Empfänger ein Einzelempfänger mit großer Empfindlichkeit und einheitlicher Empfängerfläche ist, der die Strahlung jedes Substratpixels aufzunehmen in der Lage ist, daß die Übertragungsoptik eine elektrooptische Matrix, die die Funktion eines variablen Lichtventils zum separaten Transferieren von Strahlung jedes Substratpixels auf den Empfänger hat, sowie ein abbildendes optisches System aufweist, wobei mittels des abbildenden optischen Systems jedes Substratpixel zu einem Matrixbereich, bestehend aus mindestens einem Matrixpixel, zugeordnet ist, und daß die Matrix so ansteuerbar ist, daß Matrixbereiche solcher Größe separat schaltbar sind, die ausschließlich das Zuführen von Strahlung eines Substratpixels auf den Empfänger gestatten, wobei nacheinander der Strahlungsmengen von jeweils mindestens einem Substratpixel über ein geeignet gewähltes Zeitintervall auf den Empfänger treffen, so daß eine Serie von gemessenen Strahlungsmengen ausgewählter Sequenzen von Substratpixeln am Ausgang des Empfängers auswertbar ist.

Zur Erzeugung der von den Substratpixelen charakteristisch beeinflußten Strahlung ist vorzugsweise eine intensive Beleuchtung vorgesehen. Diese wird zweckmäßig so ausgesucht, daß die Substratpixel eine durch die Beleuchtung erzeugte Lumineszenzstrahlung, vorzugsweise eine Fluoreszenzstrahlung, aussenden.

Weiterhin kann die Beleuchtung zweckmäßig zum Auslesen des Transmissions- oder Reflexionsvermögens als charakteristisch beeinflußte Strahlung der Substratpixel eingesetzt werden.

Für die Beleuchtung ist vorteilhaft eine Beleuchtungseinrichtung vorzusehen, die ein paralleles Strahlenbündel aufweist, das unter Berücksichtigung nachgeordneter optischer Komponenten zur großflächig gleichmäßigen Beleuchtung aller Substratpixel geeignet ist.

Eine andere geeignete Möglichkeit zur Erzeugung der von den Substratpixelen charakteristisch beeinflußten Strahlung ist durch gezieltes Hervorrufen einer chemischen Reaktion durch Kontakt der Substratpixel mit einem Umgebungsmedium, vorzugsweise mit einer Flüssigkeit, gegeben. Auch hierbei wird die durch einen Energieeintrag angeregte Lumineszenzstrahlung zu detektieren sein.

Für alle vorgenannten Fälle der Strahlungserzeugung aus den auszuwertenden Substratpixeln ist es in der erfindungsgemäßen Anordnung von Vorteil, daß die Übertragungsoptik zwischen dem Substrat und dem Empfänger angeordnet ist, wobei die charakteristische Strahlung jedes Substratpixels durch Transparentschalten zugeordneter Matrixbereiche der elektrooptischen Matrix einzeln auf dem Empfänger nachweisbar ist. Dabei wird jedes Substratpixel mittels des abbildenden optischen Systems auf jeweils ein Matrixpixel abgebildet, wobei durch Transparentschalten eines beliebigen Matrixpixels jeweils die charakteristische Strahlung des zugeordneten Substratpixels auf dem Empfänger nachweisbar ist. Es erwacht sich aber in manchen Fällen bei Veränderung des Abbildungsmaßstabes als günstig, wenn jedes Substratpixel mittels des abbildenden optischen Systems auf jeweils eine Gruppe von Matrixpixelen, die der Fläche der Sub-

stratpixel geometrisch ähnlich ist, abgebildet wird, wobei durch Transparentschalten einer solchen Gruppe von Matrixpixelen ebenfalls nur die charakteristische Strahlung eines zugeordneten Substratpixels auf dem Empfänger nachweisbar ist.

In einer anderen vorteilhaften Variante ist die Übertragungsoptik im parallelen Strahlenbündel der Beleuchtungseinrichtung vor dem Substrat angeordnet, wobei die Matrixpixel der elektrooptischen Matrix gleichmäßig von der Beleuchtungseinrichtung beleuchtet sind und durch Aktivieren definierter Matrixbereiche der elektrooptischen Matrix die Substratpixel einzeln mit dem Beleuchtungslicht beleuchtbar sind, und das Substrat mit dem Empfänger so in Verbindung steht, daß die von jedem beliebigen Substratpixel kommende Strahlung im wesentlichen verlustfrei mittels des Empfängers aufnehmbar ist. Dabei wird zweckmäßig jeweils ein Matrixpixel mittels des abbildenden optischen Systems auf ein Substratpixel abgebildet, wobei durch Aktivieren des jeweiligen Matrixpixels das zugeordnete Substratpixel zur Erzeugung der charakteristischen Strahlung beleuchtet ist. Auch hierbei kann es aus den o. g. Gründen zweckmäßig sein, daß jeweils eine Gruppe von Matrixpixelen, die dem Substratpixel geometrisch ähnlich ist, mittels des abbildenden optischen Systems auf ein Substratpixel abgebildet ist, um wiederum durch Aktivieren der jeweiligen Gruppe von Matrixpixelen das zugeordnete Substratpixel zu beleuchten.

Als elektrooptische Matrix ist zweckmäßigerweise eine Flüssigkristallmatrix auf ferroelektrischer Basis (d. h. eine LC-Matrix mit bistabilen Schaltzuständen, hohem Kontrast und kurzen Schaltzeiten) vorgesehen. Es sind jedoch auch beliebige andere Flüssigkristallmatrizen mit hohem Kontrastverhältnis zwischen transparentem und nichttransparentem Zustand einsetzbar, wenn sie eine ausreichend hohe Schaltgeschwindigkeit aufweisen.

Als abbildendes optisches System können neben den üblicherweise verwendeten Abbildungsoptiken vorteilhaft auch Faseroptiken, vorzugsweise eine Faserplatte (Fiberplate), zum Einsatz kommen, wobei eine lichtleitende Verbindung zwischen den Substratpixeln und den zugeordneten Matrixpixelen durch einen direkten Kontakt der Faseroptik mit dem Substrat einerseits und der elektrooptischen Matrix andererseits hergestellt wird, um Lichtverluste durch Streueffekte in der Luft zu vermeiden.

Je nach Ausführungsform der Erfindung können für alle Übertragungswege der Strahlung der Substratpixel (sowohl zwischen dem Substrat und der schaltbaren Matrix als auch zwischen der schaltbaren Matrix und dem Empfänger bzw. dem Substrat und dem Empfänger) beliebige strahlführende optische Elemente (z. B. Micro Channel Plate, Bildleitkabel mit oder ohne Fiber Taper) oder abbildende optische Elemente (z. B. Linsen, Linsenarrays o. ä.) eingesetzt werden.

Die erfindungsgemäße Anordnung bietet weiterhin vielfältige Möglichkeiten der optischen Datenreduktion. Dazu ist die elektrooptische Matrix vorteilhaft in geeignet gewählten Matrixbereichen aktivierbar, so daß Strahlungsmengen mehrerer ausgewählter Substratpixel gleichzeitig auf dem Empfänger nachweisbar sind und zu einem Empfänger-Meßwert zusammengefaßt (integriert) werden, wobei auf diese Weise erhaltene Meßwerte mit Strahlungswerten von Mustersonden vergleichbar sind, die unter gleichen Voraussetzungen gemessenen wurden. Damit ist ein Echtzeitvergleich integrierten Meßwerte mit einer Musterdatenbank ohne aufwendige (Bild-) Datenauswertung aller Substratpixel möglich. Ebenso sind durch die integrale Behandlung des gesamten Substrats bestimmte Ausschließungsanalysen durchführbar, z. B. ob eine bestimmte Substanz überhaupt in

irgendeinem der Substratpixel vorhanden ist.

Für die Fälle des Auslesen der Substratpixel, die auf einer durch Energieeintrag erzeugten Lumineszenz (bzw. im speziellen Fluoreszenz) basieren, enthält die Beleuchtungseinrichtung vorteilhaft eine inkohärente Lichtquelle und ein schmalbandiges AnregungsfILTER, das auf die Anregungswellenlänge des Lumineszenzstoffes der Substratpixel abgestimmt ist. Zur Anpassung an unterschiedliche Lumineszenzstoffe ist das AnregungsfILTER zweckmäßig austauschbar. Die Beleuchtungseinrichtung weist insbesondere aus diesem Grund eine relativ breitbandige leistungsstarke Lichtquelle auf. Als geeignete Lichtquellen können beliebige handelsübliche Strahler von Halogenlampen über Quecksilberdampflampen, Xenonlampen bis hin zu leistungsstarken Lumineszenzdioden eingesetzt werden. Grundsätzlich steht auch der Nutzung einer mit Strahlauflaufweitungsoptik versehenen kohärenten Lichtquelle (Laser) für die ordnungsgemäß Funktion der erfundungsgemäß Anordnung nichts entgegen, wenn die Wellenlänge des Lasers an die Anregungswellenlänge der Lumineszenzstoffe der Substratpixel angepaßt ist oder ein durchstimmbarer Laser verwendet wird. Dies geht jedoch zulasten der Kosten und der Überwindung der im Stand der Technik bekannten Einschränkungen bei Verwendung beliebiger Lumineszenzstoffe.

Die Beleuchtungseinrichtung kann bezüglich ihrer geometrischen Anordnung in verschiedenen Varianten vorteilhaft gestaltet sein. Sie wird insbesondere für Auswertungen der Transmission der Substratpixel in einer Durchlicht-Hellfeld-Konfiguration ausgeführt. Auflicht-Dunkelfeld- sowie Durchlicht-Dunkelfeld-Konfigurationen sind besonders vorteilhaft für Lumineszenzanregung, aber ebenfalls bei Messungen des Transmissions- und Reflexionsvermögens der Substratpixel einsetzbar. Zur Erhöhung der Effizienz der Lumineszenzanregung lassen sich beide Dunkelfeld-Konfigurationen zweckmäßig kombinieren, indem im Lichtweg des parallelen Stahlbündels, das das Substrat transmissiv passiert, ein Spiegel angeordnet wird, dessen reflektiertes Licht als zusätzliches Auflicht-Dunkelfeld-Lichtbündel erneut auf das Substrat fällt.

Wird die elektrooptische Matrix – wie oben beschrieben – im Beleuchtungsstrahlengang zum Steuern der aufeinanderfolgend separaten Beleuchtung der einzelnen Substratpixel eingesetzt, ist ebenfalls eine Auflicht-Dunkelfeld-Konfiguration sinnvoll, wobei die Aktivierung der Matrixpixel dann eine Änderung ihres Reflexionsvermögens zur Folge haben muß.

Bei allen Varianten der Erfindung, die mit Beleuchtung der Substratpixel arbeiten, wird zweckmäßig, insbesondere bei der Auswertung der angeregten Lumineszenzstrahlung im Strahlengang vor dem Empfänger ein Sperrfilter zum Eliminieren des Beleuchtungslichts angeordnet.

Wegen der meist sehr schwachen Strahlung der Substratpixel wird als Einzelempfänger vorteilhaft ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV/PMT) verwendet. Vor dem Empfänger sind zweckmäßig strahlungskonzentrierende optische Elemente vorgesehen, die die charakteristisch beeinflußte Strahlung aller Substratpixel auf die aktive lichtempfindliche Fläche des Empfängers konzentrieren (bündeln), falls die lichtempfindliche Fläche des Einzelempfängers kleiner als die Fläche des auszulesenden Substrats bzw. der vorgeschalteten elektrooptischen Matrix ist. Dazu werden vorzugsweise vor dem Empfänger eine Sammelloptik, ein Linsenarray oder ein strahlungskonzentrierender Querschnittswandler eingesetzt. Letzterer kann z. B. ein Glaskugelstumpf sein.

Um die erfundungsgemäße Anordnung robust gegen thermische und andere Umwelteinflüsse (wie beispielsweise Er-

schüttungen bei mobilen Einsätzen) zu gestalten, ist vorteilhaft eine elektro-mechanische Stelleinheit zur regelmäßigen Nachjustierung der Übertragungsoptik relativ zum Substrat vorgesehen. Zu diesem Zweck kann es einerseits nützlich sein, daß das Substrat mittels der Stelleinheit gegenüber der gesamten Übertragungsoptik in einer orthogonalen Ebene zur optischen Achse zweidimensional verschiebbar und mindestens um eine Achse (vorzugsweise die der längsten Ausdehnung des Substrats) drehbar ist. Andererseits ist es nahezu gleichwertig, aber komfortabler, die elektrooptische Matrix mittels der Stelleinheit gegenüber dem abbildenden optischen System und dem Substrat zwei Richtungen einer orthogonalen Ebene zur optischen Achse verschiebbar und mindestens um eine Achse drehbar zu gestalten.

Als mechanische Stelleinheit wird vorteilhaft ein piezoelektrischer x,y,φ-Aktuator verwendet, dessen Ansteuerung und Regelung auf einer Maximierung der Lumineszenzlichtausbeute für definierte Substratpixel, insbesondere 20 Randpixel, eines Mustersubstrats basiert.

Die grundlegende Idee der Erfindung basiert auf der Überlegung, daß eine Anordnung zum Auslesen von matrixförmigen Substraten mit einer Vielzahl von Einzelproben (insbesondere Biochips mit bis zu zehntausenden Spots) eine breitbandige Lichtquelle zur parallelen Beleuchtung aller Pixel aufweisen sollte, um eine gleichmäßige Beleuchtung möglichst aller Substratpixel zu erreichen, so daß diese beliebig (unabhängig vom konkreten Ausleseregime) in kurzen Zeitintervallen auslesbar sind, und einen optoelektronischen Einzelempfänger (z. B. SEV), der auch bei geringer Intensität der Strahlung (z. B. Lumineszenzstrahlung oder geringe Transmission bei Durchlichtbeleuchtung) ausreichende Empfindlichkeit der Auslesung gewährleistet, enthalten müßte.

Der Widerspruch, der sich bei der technischen Realisierung infolge der relativ kleinen, nicht ortsaflösenden Empfängerfläche eines SEV bei einer Abbildung des gesamten Substrats ergibt, wird gelöst, indem dem Empfänger eine matrixförmige Lichtverschlußanordnung vorgeordnet wird,

40 bei dem die Matrixelemente in ihrer Anzahl mit der Anzahl der Bio-Matrix-Pixel übereinstimmen und separat in ihrer Lichttransmission bzw. -reflexion mit hohem Kontrastverhältnis schaltbar sind, so daß die charakteristisch (durch die Probensubstanz) beeinflußte Strahlung jedes Substratpixels

45 separat auf dem Empfänger nachweisbar ist. Außerdem kann dabei ein Zusammenfassen (nicht zwingend zusammenhängender) Bereiche im Bild des Substrats (z. B. zur Echtzeitauswertung im Ausschließungsverfahren unter Verwendung von Musterdatenbanken) zugelassen werden.

50 Die Erfindung soll nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen näher beschrieben werden. Die Zeichnungen zeigen:

Fig. 1: den prinzipiellen Aufbau der erfundungsgemäßen Anordnung,

55 Fig. 2: eine Ausgestaltung der Erfindung mit Anregung der Substratpixel durch eine kombinierte Dunkelfeld-Beleuchtung,

Fig. 3: eine Durchlicht-Hellfeld-Beleuchtung, vorzugsweise für Lumineszenzanregung der Substratpixel, die auch 60 für Transmissionsmessungen geeignet ist,

Fig. 4: eine alternative Gestaltung der Beleuchtung in Anlehnung an Fig. 3,

Fig. 5: eine vorteilhafte Variante der Erfindung, bei der die Übertragungsoptik im Strahlbündel der Beleuchtungseinheit angeordnet ist, in Durchlicht-Hellfeld-Konfiguration,

65 Fig. 6: eine abgewandelte Variante der Gestaltung gemäß Fig. 5 in Auflicht-Dunkelfeld-Konfiguration,

Fig. 7: eine Gestaltungsmöglichkeit des abbildenden optischen Systems zwischen Substrat und elektrooptischer Matrix,

Fig. 8: eine alternative Möglichkeit zu dem in den Fig. 1 bis 6 gezeigten strahlungs konzentrierenden Element,

Fig. 9: die einfachste Variante der verlustfreien Lichtkopplung zwischen elektrooptischer Matrix und Empfänger,

Fig. 10: eine besonders kompakte Ausführung der Übertragungsoptik durch einen Quasi-Kontakt der elektrooptischen Matrix mit dem Substrat als Direktabbildung sowie

Fig. 11: weitere kompakte Gestaltung der Übertragungsoptik, bestehend aus Faserplatte und elektrooptischer Matrix.

Die erfindungsgemäße Anordnung besteht in ihrem Grundaufbau – wie in Fig. 1 dargestellt – aus einem matrixförmigen Substrat 1 mit einer Vielzahl von Einzelproben, die metrisch geordnete Substratpixel 11 auf dem Substrat 1 darstellen und eine durch die jeweilige Probensubstanz charakteristisch beeinflußte Strahlung abgeben, wobei dem Substrat 1 zum Zwecke der optischen Auslesung auf einer gemeinsamen optischen Achse eine Übertragungsoptik, bestehend aus einem abbildenden optischen System 3 und einer elektrooptischen Matrix 4, und der Empfänger 7 mit einem vorgeordneten strahlungskonzentrierenden Element 6 zur Bündelung aller über die Matrix 4 übertragenen Strahlung der Substratpixel 11 folgen. Eine Auswerteeinheit 8 steuert dabei mittels der Matrix 4 das Ausleseregime und erfaßt die optoelektronisch gewandelten Strahlungsmengen der Substratpixelstrahlung, die der Empfänger 7 aufgenommen hat. Die substanzinhärent charakteristisch beeinflußte Strahlung der Substratpixel 11 kann auf unterschiedliche Weise ausgelöst werden, in jedem Fall ist jedoch ein auslösendes Ereignis vonnöten, das den Substratpixeln Energie zuführt. Das wird am häufigsten eine intensive Beleuchtung sein, kann aber auch durch freiwerdende Energie einer chemischen Reaktion bei Kontakt mit einem Umgebungsmedium geschehen. Für letzteren Fall wäre somit die dargestellte Anordnung bereit funktionsfähig und könnte gegebenenfalls nur noch durch Variationen der abbildenden und strahlungskonzentrierenden optischen Elemente geändert werden, um kompaktere Ausführungen oder Gestaltungen für spezielle Anwendungen, wie weiter unten beschrieben, zu erreichen.

Wie in Fig. 1 durch die Strichellinie angedeutet, gibt es zwischen den Substratpixeln 11 und den Pixeln 41 der elektrooptischen Matrix 4 eine eindeutige abbildende Zuordnung. Das ist deshalb erforderlich, weil erfindungsgemäß die Matrix 4 als örtlich differenziert arbeitendes Lichtventil eingesetzt ist, um die Strahlung jedes einzelnen Substratpixels 11 separat auf die lichtempfindliche Fläche 71 des Empfängers 7 zu bringen.

Im folgenden werden unterschiedliche Ausführungen der Erfindung mit Erzeugung der Strahlung der Substratpixel 11 durch Beleuchtung behandelt. Dabei sind alle nicht speziell mit der Konfiguration der Beleuchtungseinrichtung 9 im Zusammenhang stehende Abwandlungen der Anordnung gemäß Fig. 1 ebenfalls auf diese anwendbar und somit gleichfalls als zurückbezogen aufzufassen.

In Fig. 2 ist eine Beleuchtungseinrichtung 9 in einer Konfiguration nach dem Dunkelfeld-Verfahren dargestellt. D. h. die optische Achse 95 der einfallenden Beleuchtung bildet mit der optischen Achse 2, auf der Substrat 1, abbildendes optisches System 3, Matrix 4 und Empfänger 7 angeordnet sind, einen Winkel α , unter dem sämtliche Substratpixel 11 beleuchtet werden. Die Beleuchtungseinrichtung 9 enthält eine breitbandige inkohärente Strahlungsquelle 91 (z. B. eine Halogenlampe, eine Xenonlampe, eine Quecksilberdampflampe, eine lichtstarke Lumineszenzdiode oder ein Array nicht zwingend gleichartiger LED). Der von der

Lichtquelle 91 ausgehende Strahlungskegel wird über eine Kondensoroptik 92 und ein schmalbandiges Anregungsfilter 93 als paralleles Lichtbündel 94 durch das transparente Substrat 1 (z. B. ein Biochip, Mikropräparateträger aus Glas o. ä.) hindurch auf die anzuregende Substanz der Substratpixel 11 geführt. Dabei ist das Anregungsfilter 93 auf die Anregungswellennänge der in den Substratpixel 11 abgestimmt und kann nach Bedarf ausgetauscht werden.

Ein wesentlicher Teil des kollimierten (parallelen) Strahlenbündels 94 wird durch die Substratpixel 11 hindurchtreten. Durch Einsatz eines Spiegels 96 senkrecht zur optischen Achse 95 der Beleuchtungseinrichtung 9 wird das parallele Strahlenbündel 94 nochmals in Form des Auflicht-Dunkelfeld-Verfahrens auf das Substrat 1 geführt und erhöht dadurch die effektiv zur Anregung (Lumineszenz, insbesondere Fluoreszenz) nutzbare Anregungsintensität.

Im weiteren soll ohne Beschränkung der Allgemeinheit die Fluoreszenz als angeregte Strahlung der Substratpixel 11 angenommen werden.

Die in den Substratpixeln 11 angeregte Fluoreszenzstrahlung wird über das abbildende optische System 3 (nachfolgend Objektiv 3 genannt) auf die Matrixpixel 41 einer elektrooptischen Matrix 4, die im folgenden vereinfacht als Flüssigkristallmatrix (LC-Matrix 4) bezeichnet sein soll, abgebildet. Die Substratpixel 11, Objektiv 3 und Matrixpixel 41 sind dabei im Strahlengang derart angeordnet, daß die Ebene, in der sich die Substratpixel 11 befinden, in die Ebene abgebildet wird, in der sich die Matrixpixel 41 der LC-Matrix 4 befinden. Bei dieser reellen Abbildung wird jedem Pixel 11 des Substrats 1 mindestens ein Matrixpixel 41 zugeordnet. Zweckmäßige Varianten für die Zuordnung der Substratpixel 11 zu den Matrixpixeln 41 sind neben der 1 : 1-Zuordnung Verhältnisse von 1 : 4 oder 1 : 9. Eine günstige, weil kompakte Ausführungsform kann auch dadurch erzielt werden, daß das Objektiv 3 als Linsenarray aus Einzellinsen 31 ausgeführt ist (wie ein Detailauschnitt gemäß Fig. 7 zeigt). Dabei ist für die optimale Abbildung jedes Substratpixel 11 auf die gewählte Anzahl zugeordneter Matrixpixel 41 genau eine Einzellinse 31 des Linsenarrays vorgesehen.

In Strahlausbreitungsrichtung hinter der LC-Matrix 4 sind aufeinanderfolgend ein Sperrfilter 5 zur Eliminierung der Anregungsstrahlung, ein strahlungskonzentrierendes (bündelndes) optisches Element 6 und ein (hochempfindlicher) optoelektronischer Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) als Empfänger 7 angeordnet. Das lichtsammelnde Element 6 kann, wie in Fig. 2–6 dargestellt, als zweidimensionaler Querschnittswandler (Fibertaperbündel, monolithischer Kegelstumpf aus Glas o. ä.) ausgeführt sein. Ebenso ist an dieser Stelle eine Sammellinse 61 (siehe Detailauschnitt gemäß Fig. 8) möglich. Das lichtsammelnde Element 6 ist unabhängig von seiner technischen Realisierung prinzipiell so ausgeführt und angeordnet, daß es die gesamte Fluoreszenzstrahlung, die durch die LC-Matrix 4 und das Sperrfilter 5 hindurchtritt, auf die lichtempfindliche Fläche 71 des Empfängers 7 konzentriert (bündelt bzw. fokussiert).

Für den Fall, daß die optisch aktive Gesamtfläche der LC-Matrix 4 nicht größer als die lichtempfindliche Fläche des Empfängers 7 ist, können LC-Matrix 4, Sperrfilter 5 und Empfänger 7 auch unmittelbar (praktisch in Kontakt) hintereinander im Strahlengang angeordnet werden, wie es in Fig. 9 gezeigt ist. In diesem Fall entfällt das lichtsammelnde Element 6 ersatzlos. Die Reihenfolge der Anordnung der LC-Matrix 4 und des Sperrfilters 5 im optischen Strahlengang können auch vertauscht sein.

Zum Auslesen des Substrats 1 werden zeitlich nacheinander diejenigen Matrixpixel 41 der LC-Matrix 4 auf Transmission geschaltet, die den einzelnen Substratpixeln 11 ent-

sprechen und für jeden dieser Schaltzustände der Empfängermeßwert in der Auswerteeinheit 8 registriert und geordnet nach der örtlichen Lage des geöffneten Schaltzustandes gespeichert und gegebenenfalls bereits ausgewertet.

Die Fluoreszenzstrahlung jedes Substratpixels wird genau auf einen oder auf eine definierte Anzahl (z. B. 4 oder 9) schaltbare Pixel der elektrooptischen Matrix abgebildet. Zeitlich nacheinander werden jeweils diejenigen Pixel der elektrooptischen Matrix geöffnet, die genau einem Substratpixel zugeordnet sind. Dadurch gelangt nacheinander jeweils nur die Strahlung eines Substratpixels auf das Einfallsfenster als aktive Fläche des SEV auf dessen Photokathode und wird dort in ein elektrisches Signal umgewandelt. Die elektrooptische Matrix ist zweckmäßigerverweise eine Flüssigkristallmatrix auf ferroelektrischer Basis (d. h. eine LC-Matrix mit bistabilen Schaltzuständen, hohem Kontrast und kurzen Schaltzeiten).

Für die Ansteuerung der LC-Matrix 4 können je nach Aufgabenstellung verschiedene Modi zweckmäßig sein. Im folgenden seien einige Beispiele genannt:

Die LC-Matrix 4 wird in einer solchen Art und Weise ansteuert, daß die Empfängermeßwerte genau der Fluoreszenzintensität der einzelnen Bio-Chip-Pixel 7 entsprechen. Dabei sind zu einem beliebigen Zeitpunkt immer nur solche Matrixpixel 41 auf Transmission geschaltet, die genau der abgebildeten Fläche eines Substratpixels 11 entsprechen. In diesem Fall werden die Meßwerte wie beim sogenannten Scan-Prinzip des Standes der Technik in zeitlicher Reihenfolge aufgenommen.

In einigen Fällen kann es ausreichend sein, auf diese Art und Weise nicht die Fluoreszenzintensitäten aller Substratpixel 11 zu messen, sondern nur einige ausgewählte Pixelkoordinaten der elektrisch ansteuerbaren LC-Matrix 4 anzusteuern und somit von den zugeordneten Substratpixel 11 zu messen, ob die erwartete Fluoreszenz vorhanden ist oder nicht (Ausschließungsverfahren).

Weiterhin kann die LC-Matrix 4 so angesteuert werden, daß die Fluoreszenzintensitäten aller oder nur ausgewählter Substratpixel 11 entweder zeitlich nacheinander dem Empfänger zugeführt und zu einem Meßwert auf integriert (bzw. summiert) werden oder (durch zeitgleiches Öffnen mehrerer zugeordneter Bereiche von Matrixpixeln 41) Fluoreszenzstrahlung von mehreren Substratpixeln 11 gleichzeitig aufgenommen wird. Dabei ist es z. B. zweckmäßig, zeilen-, spalten- oder matrixweise kumulative Meßwerte zu bilden, die mit zuvor in gleicher Weise angenommenen kumulativen Intensitätsmeßwerten eines Mustersubstrats verglichen wird. Wieviele solcher kumulativen Meßwerte zur zweifelsfreien Unterscheidung (Klassifizierung) von Substraten 1 nötig sind, hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, insbesondere von der Zahl der zu unterscheidenden Klassen, der Signifikanz ihrer Unterschiede und der Toleranzbreite der optischen Eigenschaften bei identischer Information der Substrate mit einem angenommenen Mustersubstrat.

Eine noch gezieltere Informationsgewinnung wird durch die Ansteuerung der LC-Matrix 4 in einer solchen Art und Weise erreicht, daß die Fluoreszenzintensität einer vorgegebenen Menge von Substratpixeln 11 (definierte Anzahl und Koordinaten auf dem Substrat 1) gleichzeitig gemessen wird. Diese vorgebbaren Mengen von Substratpixeln 11 sind dabei beispielsweise so zu wählen, daß sie den vorher in einer Bibliothek abgelegten Fluoreszenz-Strahlungsmustern bekannter biologischer Substanzen (z. B. Viren o. ä.) entsprechen (z. B. positives und/oder negatives Strahlungsmuster). Auf diese Weise ist es möglich, z. B. einen auszulesenden Biochip als Substrat 1 im Ausschließungsverfahren zu bewerten, wobei ein wesentlicher Teil der Informationsverarbeitung (im Sinne einer Informationsreduktion) be-

reits im optischen Kanal der Leseeinrichtung realisiert wird und somit eine Echtzeitauswertung in der Auswerteeinheit 8 vorab vorgenommen werden kann.

Die folgendem Fig. 3 bis 5 unterscheiden sich im wesentlichen durch die Art der eingesetzten Beleuchtung.

In Fig. 3 ist die Beleuchtungseinrichtung 9 in einer Durchlicht-Hellfeld-Konfiguration angeordnet, d. h. die optischen Achsen 2 und 95 fallen zusammen. Die Substratpixel 11 werden durch das Substrat 1 hindurch gleichmäßig beleuchtet. Wie zu Fig. 1 und 2 bereits beschrieben werden die Substratpixel 11 auf bestimmte Bereiche von Pixeln 41 der LC-Matrix 4 abgebildet. Je nach Steuerung der Transparenz der Matrixpixel 41 wird die Fluoreszenzstrahlung durch das Auswerteregime bestimmter Substratpixel 11 durchgeschaltet und optoelektronisch gewandelt.

Für eine hinsichtlich Umwelteinflüssen (Erschütterungen, großer Temperaturbereich o. ä., wie sie z. B. in Fahrzeugen anzutreffen sind) "robuste" technische Ausführung der erfundungsgemäßen Anordnung, ist es sinnvoll, in bestimmten

Zeitabständen oder nach starken Belastungen eine Autokalibration der Abbildung der Substrat-Ebene in die Ebene der LC-Matrix 4 durchzuführen. Eine solche Vorrang ist in Form der Stelleinheit 42 angegeben, die die LC-Matrix 4 bezüglich ihrer Lage in zwei orthogonalen Richtungen zur optischen Achse 2 sowie mindestens um eine diese Achsrichtung einstellbar macht. Dies kann zweckmäßig durch einen Regelkreis realisiert werden, bei dem das Stellelement 42 ein x,y,φ-Piezoaktuator ist, der die LC-Matrix 4 bewegt, bis ein Regelsignal einen Extremwert annimmt. Dieses Regelsignal kann gebildet werden, indem wenigstens drei Pixel 41 des Substrats 1 als Kalibrierpixel ausgeführt sind und in der Ebene des Substrats 1 angeordnet sind (entweder als integraler Bestandteil jedes Substrats, sinnvoll vor allem bei Biochips oder als Teil der Substrat-Halterung), zu diesen Kalibrierpixeln konjugierte Pixel 41 der LC-Matrix 4 existieren, die während des Justierungsvorganges alle transparent geschaltet sind (wobei alle anderen Matrixpixel 41 geschlossen sind) und eine Stellbewegung der Matrix 4 mittels des Stellelementes 42 solange durchgeführt wird, bis das Empfängersignal zum absoluten Maximum wird.

Die Matrix 4, das Stellelement 42 und der Empfänger 7 sind elektrisch mit der Steuer- und Auswerteeinheit 8 verbunden, die die Ansteuerelektronik dieser Bauelemente, einen A/D-Wandler oder einen PC einen Speicher für Musterbibliotheken enthalten kann.

Aufgabe dieser Stelleinheit 42 ist es, eine mit der Ansteuerung der Matrixpixel 41 (und im Falle der Autokalibration auch des Stellelementes) synchronisierte Meßwertübernahme zu realisieren, diese Meßwerte ggf. abzuspeichern und einer softwaremäßigen Auswertung zu unterziehen. Es kann auch Aufgabe dieser Stelleinheit 42 sein, die übernommenen Meßwerte mit vor der eigentlichen Messung ermittelten und abgespeicherten Werten (z. B. Störlichtverteilungen in der optischen Anordnung, Restfluoreszenz des Substrates 1, Dunkelstrom des Empfängers 7, Homogenitätsverteilung der Anregungsstrahlung im Substrat usw.) zu kalibrieren.

Für bestimmte Aufgabenstellungen kann es sinnvoll sein, größere Pixelzahlen der LC-Matrix gleichzeitig zu schalten, um z. B. abgespeicherte Strahlungsverteilungen von Bio-Matrix-Bildern aus einem Katalog und/oder deren Negativbild in die LC-Matrix einzuschreiben.

Andere, je nach konkreter Aufgabenstellung günstige Ausgestaltungsformen der erfundungsgemäßen Anordnung können beispielsweise dadurch erzielt werden, daß für die Verarbeitung von nichttransparenten Substraten 1 der Spiegel 96 aus Fig. 2 entfallen kann entfallen und an dessen

Stelle die Elemente 91 bis 93 vorzusehen sind, wodurch eine Auflicht-Dunkelfeld-Beleuchtung realisiert wird, wie in Fig. 4 dargestellt. Der Aufbau und die Wirkungsweise entspricht im übrigen der von Fig. 2.

Fig. 5 enthält eine Durchlicht-Helffeld-Konfiguration bei gleichem Aufbau der Beleuchtungseinrichtung 9 wie in Fig. 3. Hier besteht die Besonderheit darin, daß die Übertragungsoptik, bestehend aus dem Objektiv 3 und der LC-Matrix 4 vor dem Substrat 1 angeordnet sind und das Substrat unmittelbar vor dem Empfänger 7 positioniert ist, wo in den vorherigen Figuren jeweils die LC-Matrix 4 ihren Platz hatte. Die Wirkungsweise der Anordnung unterscheidet sich nun dadurch, daß in dieser Variante mittels der LC-Matrix 4 nur selektiv einzelne Substratpixel 11 des Substrats 1 beleuchtet werden und somit nicht wie zuvor das gesamte Substrat 1 ausgeleuchtet wird. Das Ergebnis auf dem Empfänger 7 bleibt dabei jedoch dasselbe wie bei der vorangegangenen Figuren beschrieben.

Fig. 6 enthält die gleiche Anordnung von LC-Matrix 4, Objektiv 3 und Substrat 1 wie in Fig. 5, jedoch mit einer Auflicht-Dunkelfeld-Beleuchtung. Die Beleuchtungseinrichtung 9 mit den bekannten Elementen 91, 92 und 93 ist nunmehr auf die dem Empfänger 7 zugewandte Seite der LC-Matrix 4 unter einem Winkel α auf die optische Achse 2 gerichtet. Die Besonderheit der Matrix 4 liegt hierbei darin, daß sich das Reflexionvermögen ihrer Matrixpixel 41 mit hohem Kontrast steuern lassen muß. Alle anderen Zuordnungen der Elemente der Anordnung bleiben wie bisher erhalten.

Zur Erzielung einer besonders kompakten Bauform der erfundungsgemäßen Anordnung können das Substrat 2 und die LC-Matrix 4 auch in "Quasikontakt" angeordnet werden. Diese Variante zeigt Fig. 10 als Detailausschnitt. Eine Ausführung die das allseitig aus den Substratpixeln 11 austretende Fluoreszenzlicht besser separiert oder führt ist in Fig. 11 dargestellt. Hier ist zwischen Substrat 2 und LC-Matrix 4 eine Faserplatte (Fiberplate) angefügt, die die beiden Elemente miteinander gekoppelt und somit das Fluoreszenzlicht verlustarm auf die Matrixpixel 41 leitet.

Liste der verwendeten Bezeichnungen

1 Substrat	
11 Substratpixel	
2 optische Achse	
3 optisch abbildendes System (Objektiv)	45
31 Einzellinsen eines Linsenarrays	
4 elektrooptische Matrix (LC-Matrix)	
41 Matrixpixel	
42 Stelleinheit	
5 Sperrfilter	
6 strahlungskonzentrierende optische Elemente	
61 Sammellinse	
7 Empfänger (SEV)	
71 aktive lichtempfindliche Fläche (Eintrittsfenster) des SEV	55
8 Auswerteeinheit	
9 Beleuchtungseinrichtung	
91 Lichtquelle	
92 Kondensoroptik	
93 Anregungsfilter	60
94 paralleles (kollimiertes) Strahlenbündel	
95 optische Achse der Beleuchtungseinrichtung	
96 Spiegel	
α Winkel zwischen den optischen Achsen	65

Patentansprüche

1. Anordnung zum optischen Auslesen der Information von einem matrixförmigen Substrat mit einer Vielzahl von Einzelproben, die metrisch geordnete Pixel auf dem Substrat darstellen und eine durch die jeweilige Probensubstanz charakteristisch beeinflußte Strahlung abgeben, mit einer Übertragungsoptik zum separierten Übertragen der von einzelnen Substratpixeln abgegebenen Strahlung auf einen Empfänger, dadurch gekennzeichnet, daß

- der Empfänger ein Einzelempfänger mit großer Empfindlichkeit und einheitlicher Empfängerfläche ist, der die Strahlung jedes Substratpixels aufzunehmen in der Lage ist,

- die Übertragungsoptik eine elektrooptische Matrix, die die Funktion eines variablen Lichtventils zum separaten Transferieren von Strahlung jedes Substratpixels auf den Empfänger hat, sowie ein abbildendes optisches System aufweist, wobei mittels des abbildenden optischen Systems jedes Substratpixel zu einem Matrixbereich, bestehend aus mindestens einem Matrixpixel, zugeordnet ist, und

- die Matrix so ansteuerbar ist, daß Matrixbereiche solcher Größe separat schaltbar sind, die ausschließlich das Zuführen von Strahlung eines Substratpixels auf den Empfänger gestatten, wobei nacheinander Strahlungsmengen von jeweils mindestens einem Substratpixel über ein geeignet gewähltes Zeitintervall auf den Empfänger treffen, so daß eine Serie von gemessenen Strahlungsmengen ausgewählter Sequenzen von Substratpixeln am Ausgang des Empfängers auswertbar ist.

2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Erzeugung der von den Substratpixeln charakteristisch beeinflußten Strahlung eine intensive Beleuchtung vorgesehen ist.

3. Anordnung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die von den Substratpixeln charakteristisch beeinflußte Strahlung eine durch die Beleuchtung erzeugte Lumineszenzstrahlung ist.

4. Anordnung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die von den Substratpixeln charakteristisch beeinflußte Strahlung eine Fluoreszenzstrahlung ist.

5. Anordnung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß zur Erzeugung der von den Substratpixeln charakteristisch beeinflußten Strahlung eine Beleuchtung zum Auslesen des Transmissions- oder Reflexionsvermögens der Substratpixel vorgesehen ist.

6. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß zur Erzeugung der charakteristisch beeinflußten Strahlung der Substratpixel eine Beleuchtungseinrichtung vorgesehen ist, die ein paralleles Strahlenbündel aufweist, das unter Berücksichtigung nachgeordneter optischer Komponenten zur großflächig gleichmäßigen Beleuchtung aller Substratpixel geeignet ist.

7. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Erzeugung der von den Substratpixeln charakteristisch beeinflußten Strahlung eine chemische Reaktion durch Kontakt der Substratpixel mit einem Umgebungsmedium vorgesehen ist.

8. Anordnung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß zur Erzeugung der von den Substratpixeln charakteristisch beeinflußte Strahlung ein Kontakt der Substratpixel mit einer Flüssigkeit vorgesehen ist.

9. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Übertragungsoptik zwischen dem Substrat und dem Empfänger angeordnet ist, wobei die charakteristische Strahlung jedes Substratpixels durch Transparentschalten zugeordneter Matrixbereiche der elektrooptischen Matrix einzeln auf dem Empfänger nachweisbar ist. 5

10. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß jedes Substratpixel mittels des abbildenden optischen Systems auf jeweils ein Matrixpixel abgebildet ist, wobei durch Transparentschalten eines beliebigen Matrixpixels jeweils die charakteristische Strahlung des zugeordneten Substratpixels auf dem Empfänger nachweisbar ist. 10

11. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß jedes Substratpixel mittels des abbildenden optischen Systems auf jeweils eine Gruppe von Matrixpixeln, die den Substratpixeln geometrisch ähnlich ist, abgebildet ist, wobei durch Transparentschalten einer solchen Gruppe von Matrixpixelen jeweils die charakteristische Strahlung des zugeordneten Substratpixels auf dem Empfänger nachweisbar ist. 15

12. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Übertragungsoptik im parallelen Strahlenbündel der Beleuchtungseinrichtung vor dem Substrat angeordnet ist, wobei die Matrixpixel der elektrooptischen Matrix gleichmäßig von der Beleuchtungseinrichtung beleuchtet sind und durch Aktivieren definierter Matrixbereiche der elektrooptischen Matrix die Substratpixel einzeln mit dem Beleuchtungslicht 25 beleuchtbar sind, und das Substrat mit dem Empfänger so in Verbindung steht, daß die von jedem beliebigen Substratpixel kommende Strahlung im wesentlichen verlustfrei mittels des Empfängers aufnehmbar ist.

13. Anordnung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß jeweils ein Matrixpixel mittels des abbildenden optischen Systems auf ein Substratpixel abgebildet ist, wobei durch Aktivieren des jeweiligen Matrixpixels das zugeordnete Substratpixel zur Erzeugung der charakteristischen Strahlung beleuchtet ist. 35

14. Anordnung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß jeweils eine Gruppe von Matrixpixeln, die den Substratpixeln geometrisch ähnlich ist, mittels des abbildenden optischen Systems auf ein Substratpixel abgebildet ist, wobei durch Aktivieren der jeweiligen Gruppe von Matrixpixelen das zugeordnete Substratpixel zur Erzeugung der charakteristischen Strahlung beleuchtet ist. 45

15. Anordnung nach Anspruch 9, 10, 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß die elektrooptische Matrix eine Flüssigkristallmatrix mit hohem Kontrast und kurzen Schaltzeiten ist. 50

16. Anordnung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die elektrooptische Matrix eine ferroelektrische Flüssigkristallmatrix mit bistabilen Schaltzuständen ist.

17. Anordnung nach Anspruch 9, 10, 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß das abbildende optische System eine Faseroptik, vorzugsweise eine Faserplatte, ist, wobei eine lichtleitende Verbindung zwischen den Substratpixeln und den zugeordneten Matrixpixelen durch einen direkten Kontakt der Faseroptik mit dem Substrat einerseits und der elektrooptischen Matrix andererseits vorhanden ist. 60

18. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß zur optischen Datenreduktion die elektrooptische Matrix in geeignet gewählten Matrixbereichen aktivierbar ist, so daß Strahlungs-

mengen mehrerer ausgewählter Substratpixel gleichzeitig auf dem Empfänger nachweisbar sind und zu einem Empfänger-Meßwert zusammengefaßt werden, wobei auf diese Weise erhaltene Meßwerte mit Strahlungswerten von Mustersubstraten vergleichbar sind, die unter gleichen Voraussetzungen gemessenen wurden.

19. Anordnung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung eine incohärente Lichtquelle und ein schmalbandiges Anregungsfilter, das auf die Anregungswellenlänge des Lumineszenzstoffes der Substratpixel abgestimmt ist, enthält.

20. Anordnung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß das Anregungsfilter zur Anpassung an unterschiedliche Lumineszenzstoffe der Substratpixel austauschbar ist.

21. Anordnung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung eine relativ breitbandige leistungsstarke Lichtquelle aufweist.

22. Anordnung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle eine Halogenlampe ist.

23. Anordnung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle eine leistungsstarke Lumineszenzdiode ist.

24. Anordnung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung eine mit Strahlaufweitungsoptik versehene kohärente Lichtquelle enthält, die bezüglich der Wellenlänge an die Anregungswellenlänge der Lumineszenzstoffe der Substratpixel angepaßt ist.

25. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung in einer Durchlicht-Hellfeld-Konfiguration ausgeführt ist.

26. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung in einer Durchlicht-Dunkelfeld-Konfiguration ausgeführt ist.

27. Anordnung nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß im Lichtweg des parallelen Strahlenbündels, das das Substrat transmissiv passiert, ein Spiegel angeordnet ist, dessen reflektiertes Licht als zusätzliches Auflicht-Dunkelfeld-Lichtbündel bezüglich des Substrats vorgesehen ist.

28. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung in einer Auflicht-Dunkelfeld-Konfiguration ausgeführt ist.

29. Anordnung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung in einer Auflicht-Dunkelfeld-Konfiguration ausgeführt ist, wobei die Aktivierung der Matrixpixel eine Änderung ihres Reflexionsvermögens zur Folge hat.

30. Anordnung nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß im Strahlengang vor dem Empfänger ein Sperrfilter zum Eliminieren des Beleuchtungslichts vorhanden ist.

31. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Empfänger ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV/PMT) ist.

32. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß vor dem Empfänger optische Elemente vorgesehen sind, die die charakteristisch beeinflußte Strahlung aller Substratpixel auf die aktive lichtempfindliche Fläche des Empfängers konzentrieren.

33. Anordnung nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß vor dem Empfänger eine Sammloptik angeordnet ist, die zur Abbildung der charakteristisch beeinflußten Strahlung jedes Substratpixels auf die aktive lichtempfindliche Fläche des Empfängers vorgesehen ist.

34. Anordnung nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß vor dem Empfänger ein strahlungskonzentrierendes Element angeordnet ist.

35. Anordnung nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß das strahlungskonzentrierende Element 5 ein Querschnittswandler, vorzugsweise in Form eines Glaskegelstumpfes ist.

36. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine elektro-mechanische Stelleinheit zur regelmäßigen Nachjustierung der Übertragungsoptik 10 relativ zum Substrat vorgeschen ist.

37. Anordnung nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat mittels der Stelleinheit gegenüber der gesamten Übertragungsoptik in zwei Richtungen einer orthogonalen Ebene zur optischen Achse 15 verschiebbar und mindestens um eine Achse drehbar ist.

38. Anordnung nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, daß die elektrooptische Matrix mittels der Stelleinheit gegenüber dem abbildenden optischen 20 System und dem Substrat zwei Richtungen einer orthogonalen Ebene zur optischen Achse verschiebbar und mindestens um eine Achse drehbar ist.

39. Anordnung nach Anspruch 37 oder 38, dadurch gekennzeichnet, daß als mechanische Stelleinheit ein 25 piezoelektrischer x,y,φ-Aktuator vorhanden ist, dessen Ansteuerung durch Regelung auf Maximierung der Lumineszenzausbeute für definierte Substratpixel, insbesondere Randpixel, eines Mustersubstrats ausgerichtet ist. 30

Hierzu 8 Seite(n) Zeichnungen

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

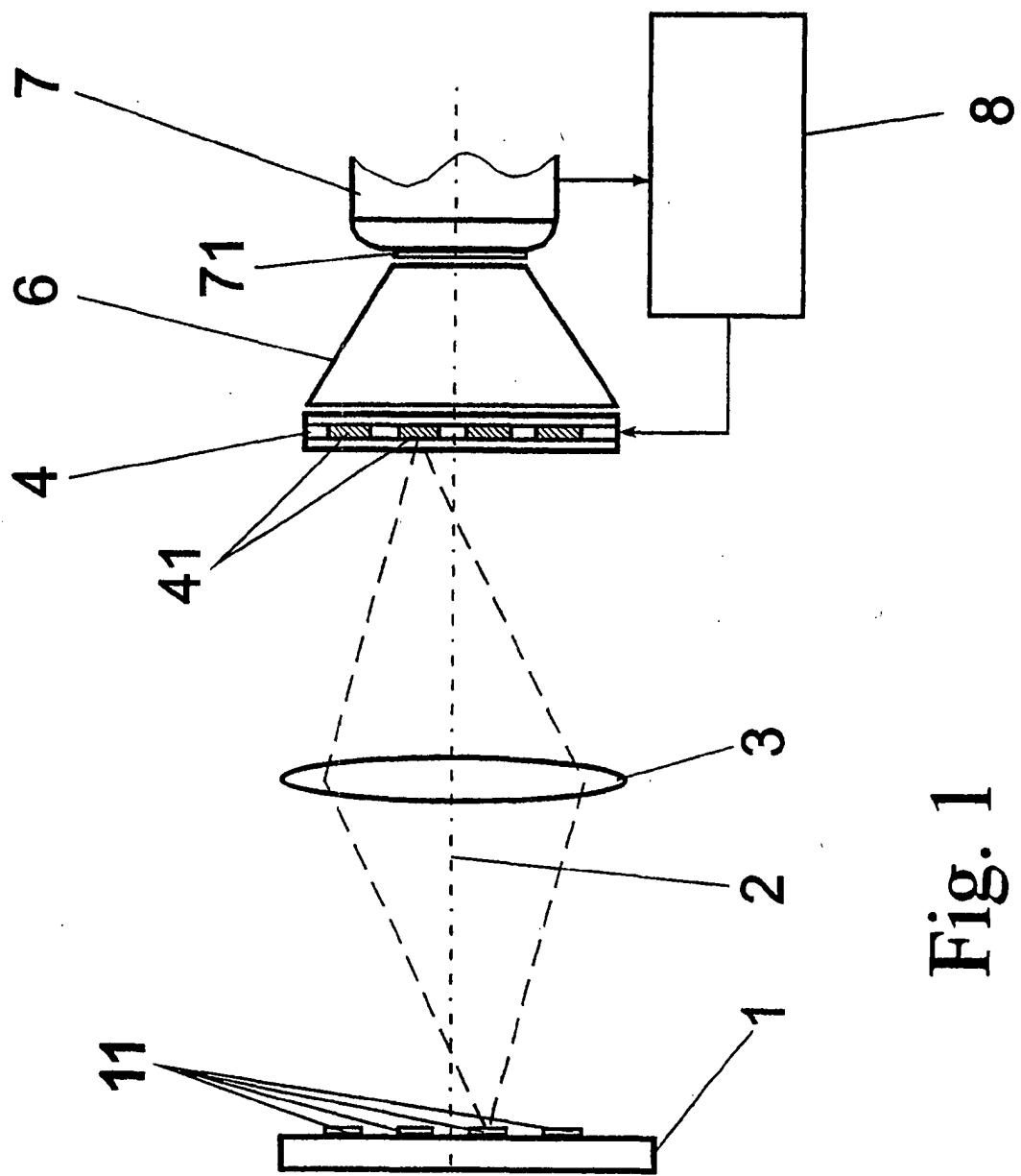


Fig. 1

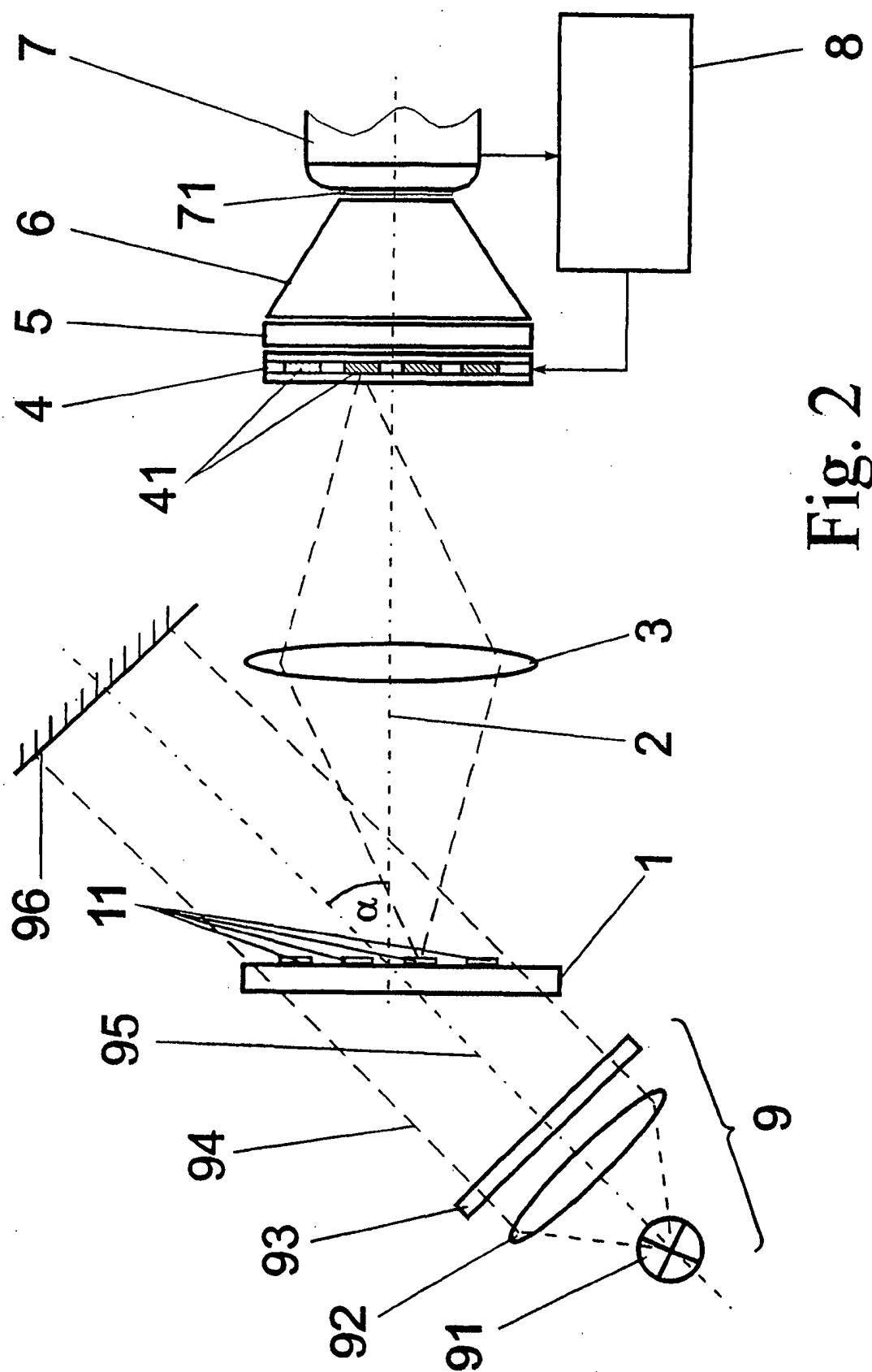


Fig. 2

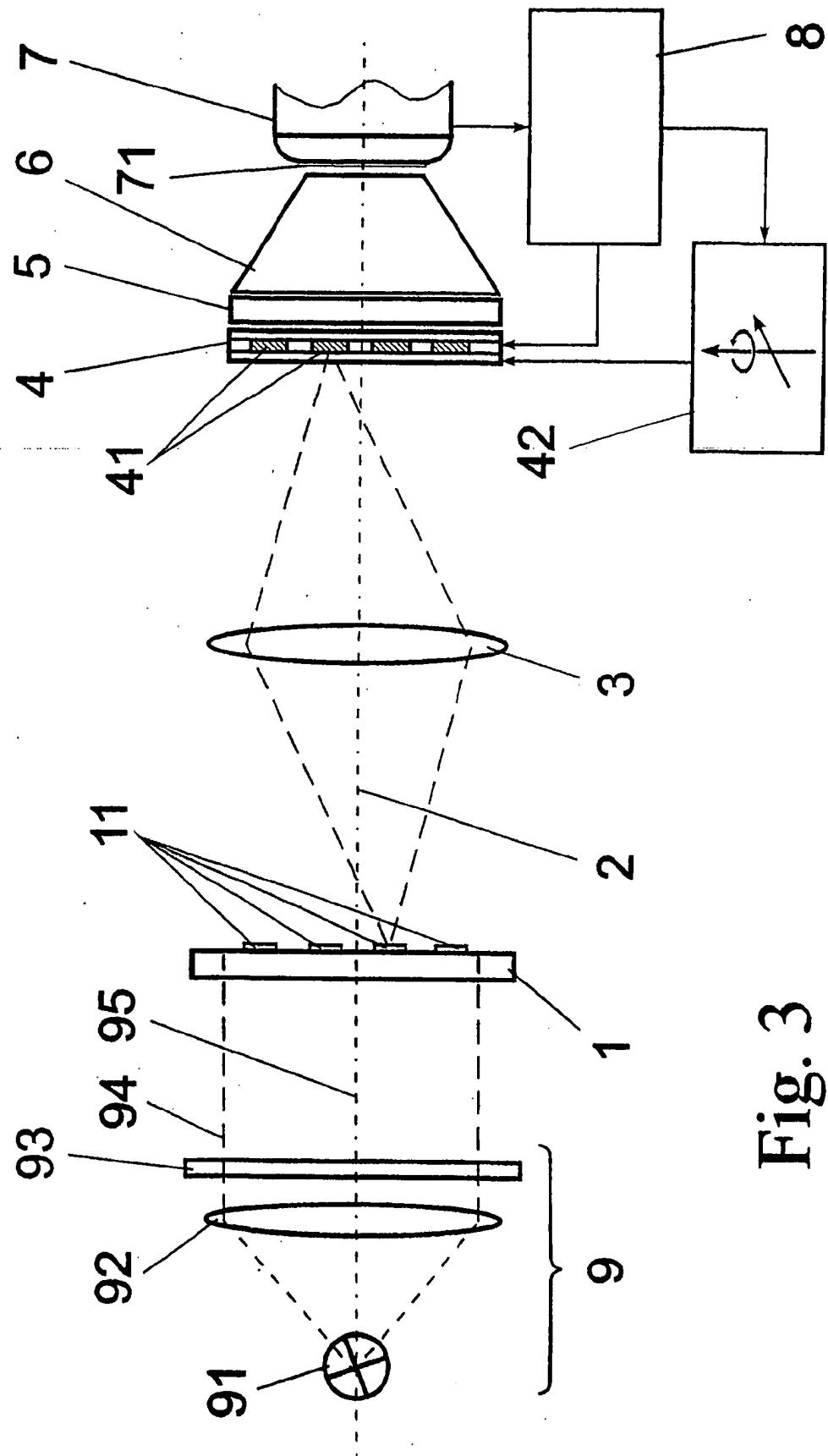


Fig. 3

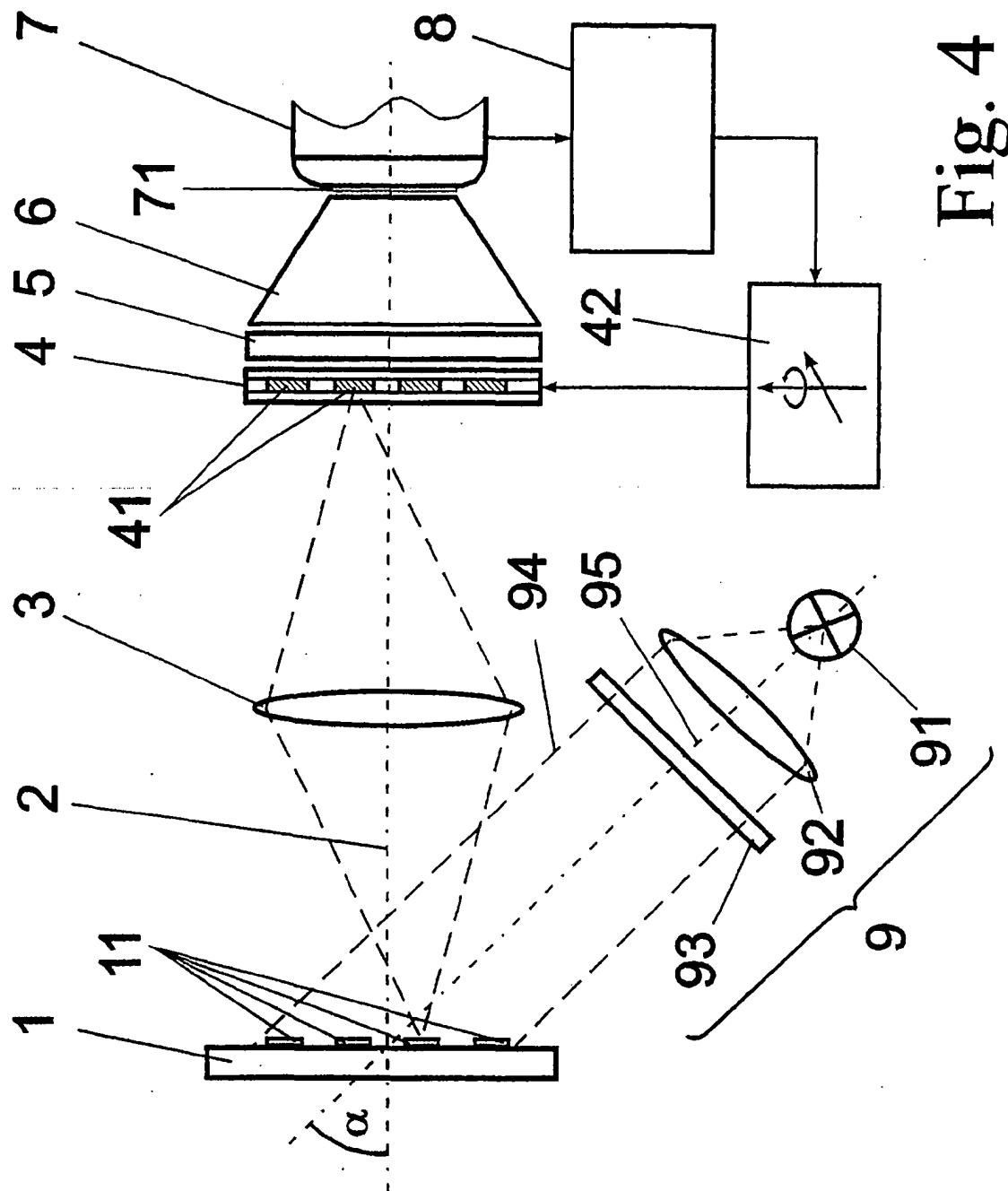


Fig. 4

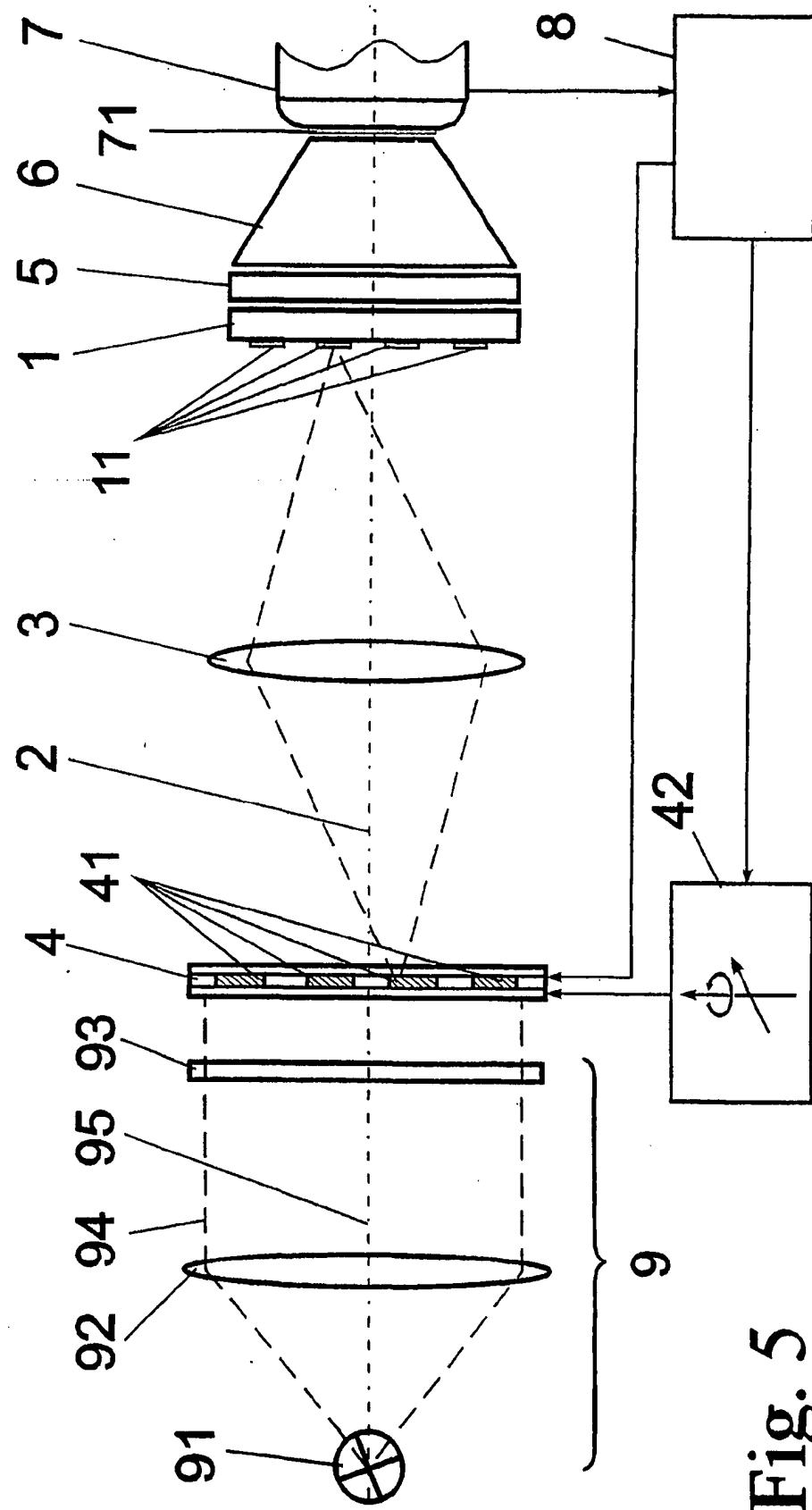


Fig. 5

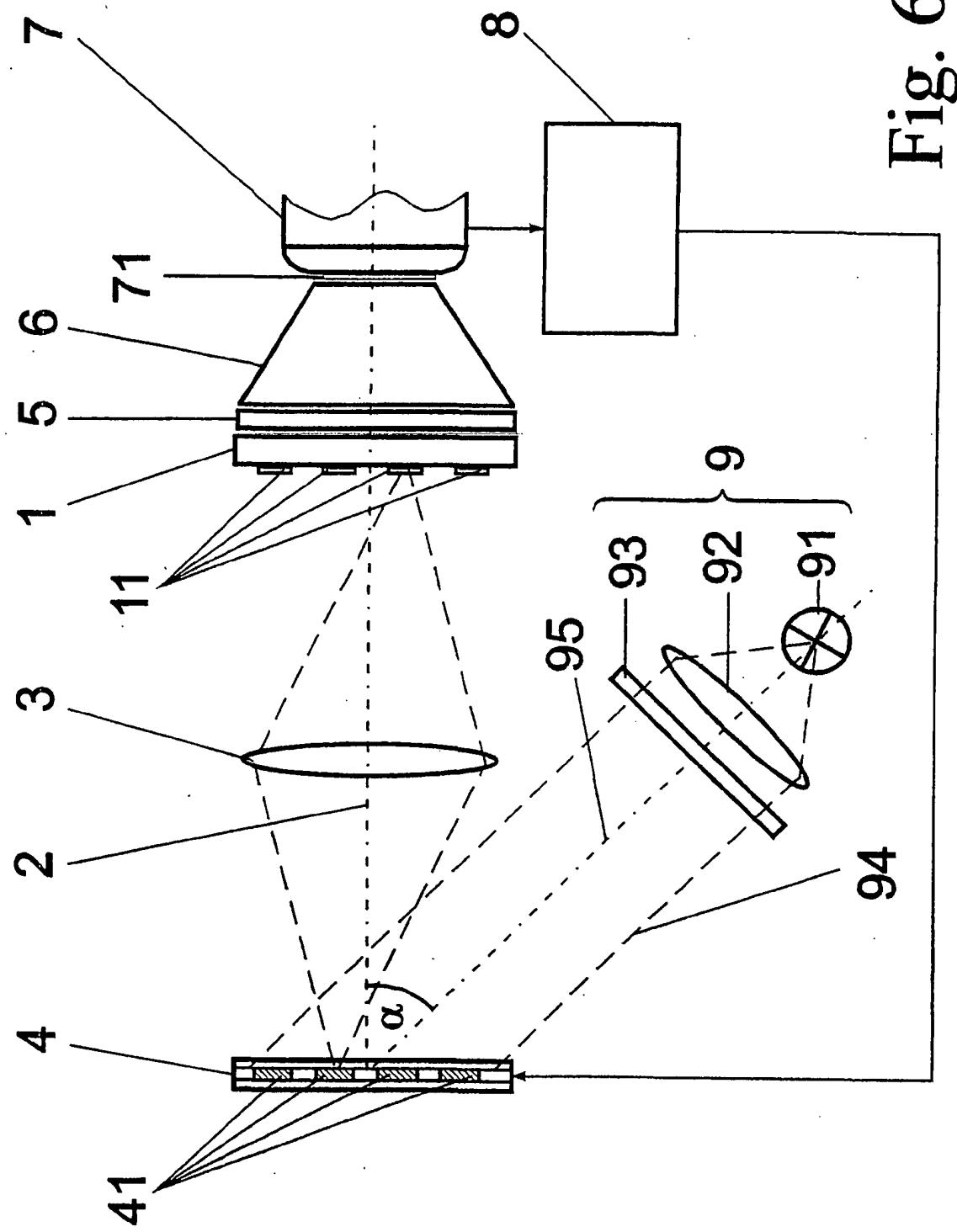


Fig. 6

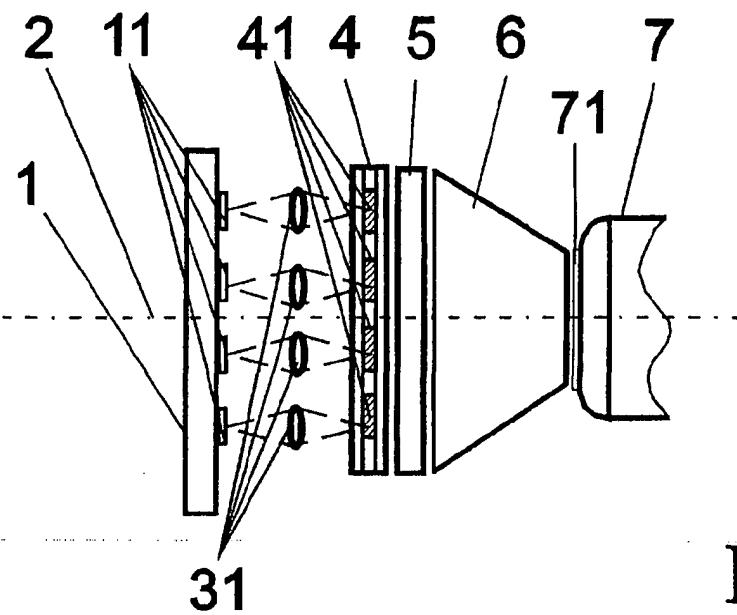


Fig. 7

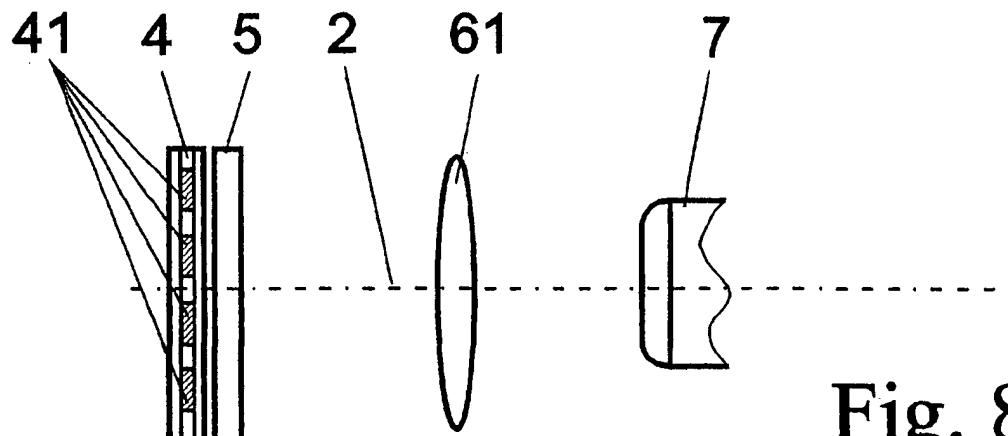


Fig. 8

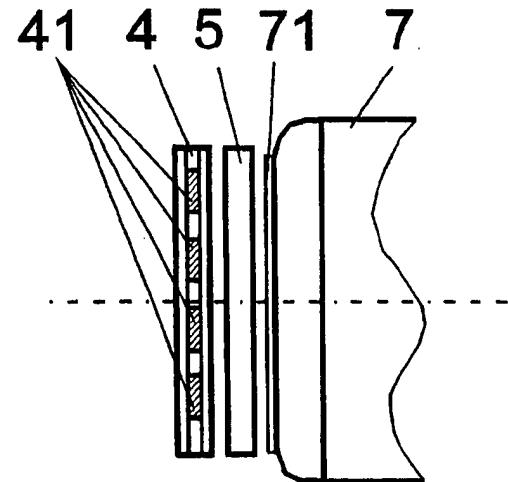


Fig. 9

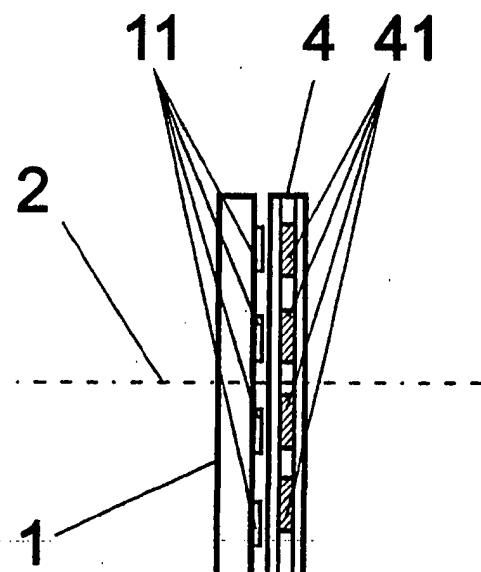


Fig. 10

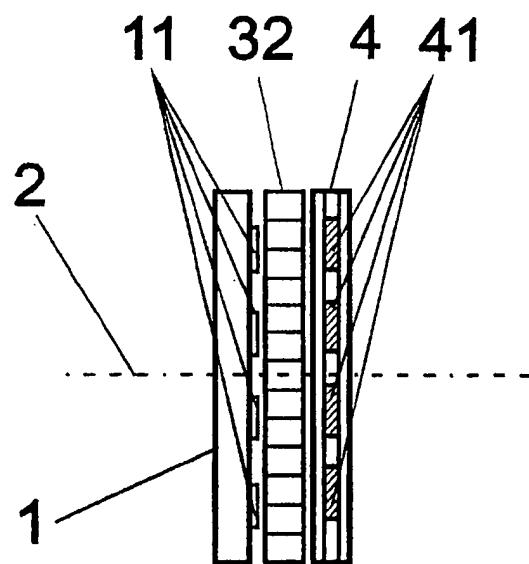


Fig. 11